

Ramos Reyes María de los Angeles*
Vargas LH**

Frecuencia de resistencia a fármacos antirretrovirales en pacientes con infección por VIH

Frequency of antiretroviral resistance in HIV-infected patients

Fecha de aceptación: junio 2012

Resumen

ANTECEDENTES. La falla al tratamiento antirretroviral en pacientes con VIH está aumentando. La detección de mutaciones con estudios de genotipo disminuye los costos y aumenta la posibilidad de éxito en la terapia de rescate.

OBJETIVO. Identificar la frecuencia de resistencia a fármacos antirretrovirales con un estudio de genotipo en pacientes con falla a tratamiento en el Hospital General de Querétaro.

MATERIAL Y MÉTODOS. Se realizó un estudio transversal, descriptivo. Se identificaron pacientes con falla al tratamiento según los lineamientos de la *International AIDS Society-USA*, del primero de enero al 31 de diciembre 2006. Se excluyeron a los pacientes con mal apego o enfermedades oportunistas. Las mutaciones se analizaron con las guías: *International AIDS Society-USA* y *Sanford Data Base*. El análisis estadístico incluyó promedios, porcentajes e intervalos de confianza.

RESULTADOS. Se incluyeron un total de 146 pacientes que se encontraban bajo vigilancia con diagnóstico de infección por VIH, 106 estaban bajo tratamiento, 50 de ellos presentaron falla al tratamiento y 28 presentaron factores de no adherencia. De los 78 pacientes, se incluyeron 22 pacientes para estudio de genotipo entre los que se encontraron 20 pacientes con resistencia a fármacos antirretrovirales con una prevalencia de 25.6% (IC 95%; 15.9-35.3).

Veinte pacientes (90%) mostraron mutaciones a algún fármaco antirretroviral, de ellos, 30% [IC 95% 3.7-57.3] en el gen de la transcriptasa reversa solamente, 45% [IC 95% 12.1-77.9] a inhibidores de transcriptasa reversa análogos nucleósidos e inhibidores de proteasa, y 25% [IC 95% 3.7-53.5] a los tres grupos. Las mutaciones más frecuentes fueron la M41L (55%), D67N (55%) K70R (50%), T215F/Y (75%), M184V (55%). La L100N y K103N (50% respectivamente); para el gen de Proteasa La L90M (57%), I54 L/M/V (43%).

CONCLUSIÓN. Conocer la prevalencia de resistencia en la población con VIH es el primer paso para que el paciente se encuentre bajo el mejor esquema de tratamiento.

Palabras clave: VIH, resistencia, genotipo, mutaciones.

Abstract

BACKGROUND. Increase on failure to antiretroviral treatment in HIV patients has been seen. The detection of mutations through genotype studies brings down costs and raises the possibility of success in rescue therapy. The objective was to identify the frequency of resistance to antiretroviral treatment through genotype studies in patients with failure treatment attended at Queretaro General Hospital.

MATERIAL AND METHODS. A transversal, descriptive study was made. Patients who showed no response to treatment with the International AIDS Society-USA guidelines were identified. Patients who had not adherence, and with opportunistic illnesses were excluded. The mutations were analyzed with International AIDS Society-USA and Sanford Data Base guidelines. The statistic analysis included rates, and confidence intervals.

RESULTS. There were included 146 patients with HIV infection, among them, 50 showed treatment failure and 28 different non-adherence factors. Among 78 patients, 22 were included in genotyping study, the frequency of resistance was 26.5% [CI 95%; 15.9-35.3], 20 patients (90%) showed mutations associated with resistance to at least one antiretroviral medicine, 30 % [CI 95% 3.7-57.3] to the Reverse Transcriptase gene, 45% [CI 95% 12.1-77.9] to ITRAN and IP, and 25 % [CI 95% 3.7-53.5] to the three groups. The most frequently found for ITRAN M41L (55%), D67N (55%), K70R (50 %), T215F/Y (75%), M184V (55%), for ITRNN L1001 and K103N (50% respectively), and for the Protease gene the Protease was L90M (57%), I54 L/M/V (43%).

CONCLUSION. Know the prevalence of resistance in the HIV population is the first step to the patients has the best treatment.

Keywords: AIDS, genotype, antiviral resistance, mutations.

*Servicio de Medicina Interna del Hospital General de Zona Número 3 del Instituto Mexicano del Seguro Social, Querétaro.

**Subdirección Hospital General de Querétaro.

Correspondencia: Dra. María de los Ángeles Ramos Reyes.

Kilómetro 0.600 carretera San Juan del Río-Tequisquiapan.

Teléfono. 01 427-2724202.

Correo electrónico. ramosreyes@hotmail.com

Introducción

El virus de la Inmunodeficiencia humana (VIH) es uno de los agentes infecciosos con mayor morbilidad en el mundo. El último reporte de la Organización Mundial de la Salud informa de un total de 34 millones de personas con VIH al final del año 2010.¹

En México, el Centro Nacional para la Prevención y el Control del VIH/SIDA reporta un total de 220 000 pacientes con VIH hasta finales del 2009, con un 27% de pacientes bajo tratamiento antirretroviral altamente activo (TARAA).²

Un paciente con acceso a terapia antirretroviral altamente activa, puede llegar a sufrir falla al tratamiento, definida según las guías para el uso de antirretrovirales,³ y puede deberse a un tratamiento subóptimo, incompleta adherencia, diferente metabolismo, interacciones entre fármacos, efectos adversos o resistencia a fármacos.⁴

La resistencia en sentido amplio se define como cualquier cambio que mejore la replicación de VIH en presencia de un inhibidor. La pérdida de susceptibilidad en estos casos se presenta en forma gradual donde se acumulan mutaciones.⁵

Una de las formas de medir la resistencia del virus hacia los medicamentos y elegir cuál tratamiento será el siguiente, es a través de los estudios de genotipo.⁶

Las pruebas genotípicas se basan en el análisis del genoma y por tanto detectan la presencia de mutaciones. La mayoría de las mutaciones de resistencia son simples sustituciones de aminoácidos, pero otras, se caracterizan por la inserción o delección de uno o más aminoácidos en la secuencia normal de la proteína transcriptasa reversa o proteasa; dichas mutaciones de resistencia alteran la forma y las propiedades bioquímicas de las proteínas virales, y son capaces de reducir su actividad farmacológica.⁷

Existen estudios en países europeos que reportan un 10% de resistencia, y en Estados Unidos una prevalencia de resistencia de 10 a 11%.^{8,9} En México se habla de hasta un 7-16% con resistencia por lo menos a un fármaco antirretroviral.^{10,11}

Las mutaciones más frecuentes que aparecen en muestras clínicas en tratamiento con inhibidores de transcriptasa reversa son la M41L, D67N, K70R, L210W, T215F/Y y K219Q/E incluyendo la T369I y la N348I.¹² En los pacientes con ITRNN una única mutación puede producir un alto nivel de resistencia a uno o más fármacos de esta familia como la mutación K103N que genera resistencia a toda la clase de ITRNN y ha mostrado que persiste por muchos años.¹³ Para los fármacos inhibidores de proteasa se han encontrado al menos 42 mutaciones localizadas en 21 codones diferentes siendo algunas de las más frecuentes la I54M/V, M6I, V82A y L76V, L10I, A71V, L90M y K20T, I47V e I84V.^{14,15,16}

La trascendencia clínica del fenómeno de resistencia del VIH es innegable, ya que cada fracaso terapéutico por esta causa, limita las opciones de tratamiento, tanto en el número de antirretrovirales a utilizar como en la facilidad de obtener la respuesta deseada.⁵

El objetivo del presente estudio fue identificar la prevalencia de resistencia en pacientes con VIH que presentaron falla al tratamiento y conocer las características genotípicas presentadas.

Material y métodos

Se realizó un estudio transversal descriptivo en pacientes que presentaron infección por VIH (virus de inmunodeficiencia humana) y que recibieron tratamiento antirretroviral en el Hospital General de Querétaro del primero de enero al 31 de diciembre del 2006.

Los criterios de inclusión fueron los pacientes con VIH bajo tratamiento antirretroviral con dos años o más, ambos sexos, mayores de edad y que no hubieran suspendido tratamiento. Se excluyeron pacientes con alguna otra patología, pacientes embarazadas, pacientes con abuso de drogas y pacientes con enfermedades oportunistas.

El tamaño de muestra se calculó con la fórmula de porcentajes para población infinita con nivel de confianza del 95% ($z=1.64$) prevalencia de la resistencia mayor al 10% y margen de error mayor del 5%. Para un tamaño de la muestra de 97, no obstante el total de población estudiada fue de 146.

Las variables incluyeron falla al tratamiento: definida como una carga viral RNA/ml mayor de 400 copias/ml después de 24 semanas de tratamiento antirretroviral o más de 50 copias/ml después de 48 semanas de terapia.¹

No adherencia: definida por aplicación del test de Morisky-Green.²

Resistencia: definida con base en las guías de análisis de genotipo³ y en la mutación o mutaciones presentadas y a qué grupo de medicamentos se presentó.

A los pacientes que se les detectó durante la consulta una falla al tratamiento, se les aplicó el test para detectar no adherencia, quedando los pacientes con probable resistencia a quienes se citó a toma de laboratorio dentro de la semana posterior al diagnóstico para la realización de un estudio de genotipo. La toma de muestra se realizó según lo marcan las diferentes pruebas comerciales, utilizándose de forma indistinta. Las muestras fueron enviadas al día siguiente posterior a la toma de muestras. El resultado fue reportado en un plazo no mayor a las tres semanas posteriores al envío. Se recibió el resultado en un sobre cerrado dirigido al encargado del programa de VIH del hospital en el cual se refirieron las mutaciones presentadas en cada paciente y con la interpretación emitida por el personal que realizó la prueba. El mismo día de recepción de resultados, se comentó cada resultado con el personal de atención de los pacientes, analizando las mutaciones nuevamente según las guías para determinar las mutaciones asociadas a resistencia.

El análisis estadístico fue de tipo descriptivo que incluyó promedios, porcentajes e intervalos de confianza.

Resultados

Al inicio del estudio, 146 pacientes se encontraban bajo vigilancia en el Hospital General de Querétaro con diagnóstico de infección por VIH, 106 estaban bajo tratamiento, 50 de ellos presentaron falla al tratamiento y 28 presentaron factores de no adherencia. De los 78 pacientes, se incluyeron 22 pacientes para estudio de genotipo entre los que se encontraron 20 pacientes con resistencia a fármacos

antirretrovirales con una prevalencia de 25.6% (IC 95%; 15.9-35.3). El promedio de edad de los pacientes fue de 34.31 años (IC 95%; 28.47-40.15). Del total de los pacientes 86% fueron hombres y 14% mujeres. En el momento del estudio la media de copias de VIH-ARN fue de 58 872 y una media de CD4 de 142 células/ml.

De los pacientes con resistencia, 30% presentaron mutaciones en el gen de la transcriptasa reversa, de los cuales 25% a medicamentos inhibidores de transcriptasa reversa análogos nucleósidos (ITRAN) y 5% a inhibidores de transcriptasa reversa no nucleósidos (ITRNN), 45% de los pacientes a ITRAN e inhibidores de proteasa (IP), y 25% a

los tres grupos de fármacos, representados en el Cuadro 1.

De la mutaciones que confieren resistencia en este gen, para ITRAN se encontraron las siguientes mutaciones: M41L, D67N, K70R, F215F/Y, K219E/Q, L74V, T69N, M184V. Representado en el Cuadro 2.

Las mutaciones asociadas a resistencia a inhibidores de transcriptasa reversa no nucleósidos fueron: L100I, K103N, Y188L y A98G. Cuadro 3.

Las mutaciones presentadas para fármacos inhibidores de proteasa fueron: D30N, I54L/M/V, V82A/F/S/T y L90M. Cuadro 4.

Cuadro 1
Mutaciones presentadas, asociadas a resistencia a fármacos antirretrovirales según los diferentes grupos de medicamentos.

Grupo de Medicamentos	Número de Pacientes	Porcentaje	I C 95%	
			Inferior	Superior
ITRAN*	5	25.0	3.7	53.7
ITRNN**	1	5.0	9.4	19.4
IP***	0	0.0	0.0	0.0
ITRAN+IP	9	45.0	12.1	77.9
ITRAN+ITRNN+IP	5	25.0	3.7	53.7

*ITRAN inhibidores de transcriptasa reversa análogos nucleósidos.

**ITRNN inhibidores de transcriptasa reversa no nucleósidos.

***IP inhibidores de proteasa.

Cuadro 2
Mutaciones presentadas asociadas a resistencia a inhibidores de transcriptasa reversa análogos nucleósidos.

Mutación	Porcentaje	I C 95%	
		Inferior	Superior
F215F/Y	75.0	36.7	113
D67N	55.0	22.0	87.9
M41L	55.0	22.0	87.9
M184V	55.0	22.0	87.9
K70R	50.0	16.9	89.1
K219E/Q	35.0	7.2	77.1
L74V	15.0	16.6	46.6
T69N	10.0	16.6	36.6

Cuadro 3
Mutaciones presentadas, asociadas a resistencia a Inhibidores de transcriptasa reversa no nucleósidos.

Mutación	Porcentaje	I C 95%	
		Inferior	Superior
L100N	50.0	11.8	88.8
K103N	50.0	11.8	88.8
Y188L	33.0	24.2	78.2
A98G	16.0	12.0	44.0

Cuadro 4
Mutaciones presentadas, asociadas a resistencia a inhibidores de proteasa.

Mutación	Porcentaje	I C 95%	
		Inferior	Superior
L90M	57.0	17.8	96.2
I54L/M/V	43.0	3.8	82.2
D30N	28.0	7.5	67.5
V82A/F/S/T	28.0	7.5	67.5

Discusión

En México existen estudios de mutaciones y genotipo en pacientes en quienes se va a iniciar un tratamiento, sin embargo hay pocos reportes similares en pacientes que han fallado al tratamiento.¹⁶ Conocer la prevalencia de resistencia a fármacos antirretrovirales en México, con estudios de genotipo, es el primer paso para que los pacientes con VIH tengan más oportunidades terapéuticas y mejoren sus posibilidades de supervivencia. El estudio de genotipo adquiere su importancia más allá del simple reporte de mutaciones; su importancia es clínica, pues las mutaciones se estudian en este contexto, tomando en cuenta qué esquema tiene el paciente y las posibilidades posteriores. El paciente que presenta falla requiere un cambio en su esquema de tratamiento antirretroviral, ya que el continuar con el mismo esquema aumenta de forma importante la morbilidad. En el presente trabajo se utilizó el análisis genotípico para el estudio de resistencia, puesto que ha probado ser la mejor manera de detectarla, relacionando las mutaciones con el análisis posterior del esquema de tratamiento, y ha sido probada su ventaja en la relación costo-efectividad.¹⁶

Un factor importante al comparar los resultados de este trabajo con otros, es la definición utilizada de falla al tratamiento.

La falta de uniformidad en la definición marca una diferencia importante por la presión selectiva de los fármacos, y el fenómeno de resistencias cruzadas. La definición de falla al tratamiento en este trabajo presenta una notable diferencia con otros trabajos^{17,18} con gran cantidad de pacientes, utilizando un plazo promedio de dos meses con fármacos antirretrovirales, cambiando las especies presentadas en el paciente al momento del estudio, provocando mayor carga viral y menor respuesta a los medicamentos.

El reporte de mutaciones se complica en los estudios con una gran cantidad de pacientes^{17,18} ya que las diferentes combinaciones de mutaciones y medicamentos son múltiples; adicionalmente, aunque los pacientes se encuentren en terapia antirretroviral altamente activa, el acceso a los medicamentos en los diferentes países no es uniforme.

En el presente estudio la mutación más frecuente es la F215F, la cual da como resultado una resistencia a la zidovudina, justificando también la presencia de la mutación M41L que confiere igualmente resistencia a dicho medicamento, esto refleja la presión selectiva de los medicamentos, pues la mutación se presentó en el 60% de los pacientes que lo tomaban.

El hecho de que la I84V haya sido la mutación más común en grandes series^{17,18} puede ser explicado por el hecho de que hasta un 71% tomaban lamivudina, los mismos que resultaron con dicha mutación, a diferencia del presente trabajo en el que sólo un 40% la tomaban.

Un dato importante es que existen pocos estudios que reportan TAMS (Thymidine-associated mutations), un hecho que llama la atención pues la presencia de ellas marca una disminución importante de las posibilidades terapéuticas, e incluso con tres o más TAMS, las posibilidades de utilizar cualquier otro ITRAN son pocas.¹⁶ En el presente trabajo un 85% presentó una TAM, lo cual justificaría el utilizar nuevos medicamentos que actúan en una enzima diferente, los inhibidores de la integrasa, los cuales se utilizan en combinación con un inhibidor de proteasa en lugar de un ITRAN.

Las grandes series no reportan las asociaciones de mutaciones, quedando sin reportarse la D67N o L210W, pues sólo en asociación dan resistencia; sin embargo no deben pasar desapercibidas, pues también su presencia confiere mayor susceptibilidad a zidovudina, lo que en la práctica clínica es importante porque en países en vías de desarrollo las opciones de tratamiento son limitadas.

La mutación K70R que se presentó en un 50% confiere posible resistencia a stavudina y abacavir (ABV), sin embargo, la situación adquiere importancia cuando observamos que en el presente estudio ningún paciente se encontraba con ABV; la presencia de esta mutación nos orienta a no incluir este medicamento en el siguiente esquema de rescate.

Para los medicamentos ITRNN las mutaciones más frecuentes fueron la L100I, que comúnmente se presenta con la K103N, hecho que explica que también se presentara en un 50%; éstas, de forma aislada, sólo producen

baja resistencia a nevirapina; sin embargo, al presentarse en forma conjunta, producen alta resistencia a nevirapina y efavirenz, situación que en la población estudiada dejaría prácticamente fuera del esquema básico de tratamiento a cualquiera de los dos ITRNN, y justifica también la utilización de nuevos medicamentos disponibles.

La mutación L90M causa resistencia a tenofovir, saquinavir, indinavir y atazanavir, dejando prácticamente a estos pacientes sin poder recibir algún IP de los disponibles. La mutación I54L es de importancia relativa, los fármacos como el fosaprenavir —uno los fármacos a los que genera resistencia—, no estuvieron disponibles al momento del

estudio. El presente trabajo muestra el problema clínico que en realidad generan las mutaciones, así como el riesgo de no conocerlas cuando el paciente presenta falla.

Conclusión

La prevalencia de resistencia a fármacos antirretrovirales en pacientes con tratamiento antirretroviral en la población estudiada fue más alta que la reportada en otros países europeos, sin embargo es similar a la encontrada en países donde la disponibilidad del tratamiento no es tan clara.^{19,20}

Referencias

1. Organización Mundial de la Salud. "Global summary of the HIV/AIDS epidemic, December 2010. Datos estadísticos". [acceso 21 enero 2012] Disponible en: <http://www.who.int/hiv/data/en/index.html>
2. Organización Mundial de la Salud. "Epidemiological fact sheet on HIV and AIDS". México. 2008. [acceso 21 enero 2012] Disponible en: <http://www.unaids.org>
3. Aberg JA, Gallant JE, Anderson J, Oleske JM, Libman H, Currier JS et al. "Primary care guidelines for the management of persons infected with human immunodeficiency virus: recommendations of the HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America". *Clin. Infect. Dis.* 2004; 39(5):609-29.
4. Pujades-Rodríguez M, Balkan S, Line A, Brinkhof M, Calmy A. "Treatment failure and mortality Factors in patients receiving second-Line HIV therapy in resource-limited countries". *JAMA* 2010;304(3):303-312.
5. García-Vallejo y Domínguez A. "La genotipificación y fenotipificación de la resistencia del virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) a los fármacos antirretrovirales". *Colomb Med.* 2003;34(3):143-154.
6. Sendi P, Gunthard HF, Simcock M, Ledergerber B, Schüpbach J, et al. "Cost-effectiveness of genotypic antiretroviral resistance testing in HIV-infected patients with treatment failure". *PLoS ONE* 2007; 2(1): e173.
7. Mendoza C, Soriano V. "Resistencia del VIH a los antirretrovirales" en *Manual para la atención del paciente con VIH/SIDA*. Publicaciones Permanyer. Barcelona, 2005 p.197-211. Bartmeyer B, Kuecherer C, Houareau C, Werning J,
8. Keeren K. "Prevalence of transmitted drug resistance and impact of transmitted resistance on treatment success in the german HIV-1 seroconverter cohort". *PLoS ONE* 2010;5(10): e12718.
9. Novak R, Chen L, MacArthur D, Baxter J, Huppler K, Peng G, et al. "Prevalence of antiretroviral drug resistance mutations in chronically HIV-infected, treatment naive patients: implications for routine resistance screening before initiation of antiretroviral therapy". *Clin Infect. Dis.* 2005;40:468-74.
10. Avila-Rios S, García-Morales C, Garrido-Rodríguez D, Ormsby C, Hernández-Juan R, Andrade-Villanueva J, y col. "National prevalence and trends of HIV transmitted drug resistance in Mexico". *PLoS ONE* 2011;6(11): e27812.
11. Gupta S, Fransen S, Paxinos E, Stawiski E, Huang W, Petropoulos C. "Combinations of mutations in the connection domain of Human Immunodeficiency Virus type 1 reverse transcriptase: assessing the impact on nucleoside and nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor resistance". *Antimicrob. Agents and Chemother.* 2010;54 (5): 1973–1980.
12. Metzner KJ, Leemann C, Di Giallono F, Grube C, Scherrer AU, et al. "Reappearance of minority K103N HIV-1 variants after interruption of ART initiated during primary HIV-1 infection". *PLoS ONE* 2011;6(7): e21734.
13. Garriga C, Pérez-Elías MJ, Delgado R, Ruiz L, Nájera R, Pumarola T y col. "Mutational patterns and correlated amino acid substitutions in the HIV-1 protease after virological failure to nelfinavir and lopinavir/ritonavir-based treatments". *J. Med. Virol.* 2007; 79: 1617–1628.
14. Shafera R, Soo-Yon R, Pillay D, Miller V, Sandstrom P, Schapiro J, et al. "Protease and reverse transcriptase mutations for drug resistance surveillance". *AIDS*. 2007; 21(2): 215–223.
15. Garriga, C, Pérez-Elías, MJ., Delgado, R, Ruiz, L, Nájera, R, Pumarola, T, et al. "Mutational patterns and correlated amino acid substitutions in the HIV-1 protease after virological failure to nelfinavir and lopinavir/ritonavir-based treatments". *J. Med. Virol.* 2007; 79: 1617–1628.
16. Avila-Rios S, García-Morales C, Garrido-Rodríguez D, Ormsby CE, Hernández-Juan R, y col. "National Prevalence and Trends of HIV Transmitted Drug Resistance in Mexico". *PLoS ONE*. 2011; 6(11): e27812.
17. Kleist M, Menz S, Stocker H, Arasteh K, Schutte C, et al. "HIV quasispecies dynamics during pro-active treatment switching: impact on multi drug resistance and Resistance Archiving in Latent Reservoirs". *PLoS ONE* 2011;6(3): e18204.
18. Cingolani A, Antinori A, Rizzo MG, Murri R, Ammassari A, Baldini F. et al. "Usefulness of monitoring HIV drug resistance and adherence in individuals failing highly active antiretroviral therapy: a randomized study (AR-GENTA)". *AIDS*, 2002. 16;3:369-79.
19. Baxter JD, Mayers DL, Wentworth DN, Neaton JD, Hoover ML, Winters MA, et al. "A randomized study of antiretroviral management based on plasma genotypic antiretroviral resistance testing in patients failing therapy. CPCRA 046 Study team for the Terry Bein Community Programs for Clinical Research on AIDS". *AIDS*, 2000. 14;9:F83-93.
20. Kandathil AJ, Kannangai R, Verghese VP, Pulimood SA, Rupali P, Sridharan G, et al. "Drug resistant mutations detected by genotypic drug resistance testing in patients failing therapy in clade C HIV-1 infected individuals from India". *Indian J Med Microbiol.* 2009;27:231-6.